

# Tam3 離脱と遺伝変異の発生機構に関する研究

植物育種科学講座 植物育種学分野  
浅野 真宏

## [背景・目的]

育種学において重要である突然変異の原因の中で、トランスポゾンが与えるインパクトは大きい。とりわけ DNA 型トランスポゾンはゲノムからの離脱や挿入による転移を通じて、対立遺伝子の多様性を急激につくりだすことが可能である。したがって DNA 型トランスポゾンの育種における有効利用が望まれるが、トランスポゾンの転移を人為的に制御することは一般的に困難だ。しかしながら、キンギョソウ *Tam3* はその転移を温度によって制御できるため、発育段階に応じて転移を起こすことができる。本研究では体細胞と生殖細胞におけるトランスポゾンの転移挙動の差異を探り、トランスポゾンの離脱による変異誘発メカニズムとその伝達機構を明らかにすることを目的とした。

## [方法・結果]

トランスポゾンが離脱すると宿主 DNA は切断された状態になるが、この切断部位は修復されて多型 (footprint) が生じるといわれている。体細胞における *Tam3* 転移動態を調査するため、*Tam3* 転移後の footprint を解析した。材料として、色素合成に関わる *nivea* 座に *Tam3* が挿入した allele (*niv<sup>ec</sup>*) をもつ HAM2 系統と、同じく色素合成に関わる *pallida* 座に *Tam3* が挿入した allele (*pal<sup>ec</sup>*) を有する HAM22 系統を用いた。これらの系統は花卉表現型により *Tam3* の離脱を評価することができる。*niv<sup>ec</sup>* では *Tam3* と隣接する宿主 DNA に重複する相同な配列 (標的部位重複配列; TSD) が存在するが、*pal<sup>ec</sup>* では TSD が非対称に位置している。低温で *Tam3* が離脱した個体より葉・花卉の DNA を抽出し、*Tam3* を挟み込むようにして増幅させた PCR 産物をクローニングし、独立の *Tam3* 転移イベントを反映するクローンを単離して footprint を解析した。*niv<sup>ec</sup>* においては 2 通り (①②)、*pal<sup>ec</sup>* では 1 通りの PCR をおこない、それに由来する footprint を解析した。その結果を (allele) / (組織) / (用いた個体数) / (クローン数) / (パターン数) で表すと、以下ようになった。検出した footprint の 90% 以上は TSD 内部の変異であり、特に野生型に復帰したもの (0 型) が多く検出された。これは従来の footprint 形成モデルから逸脱する結果である。遺伝子に影響すると考えられるような変異は 3-4% だった。

*niv<sup>ec</sup>* / 葉①/ 6 個体/ 104 clones/ 23 pattern 花①/ 3 個体/ 83 clones/ 16 pattern  
葉②/ 3 個体/ 112 clones/ 16 pattern 花②/ 3 個体/ 108 clones/ 12 pattern  
*pal<sup>ec</sup>* / 葉/ 3 個体/ 238 clones/ 69 pattern 花/ 3 個体/ 117 clones/ 38 pattern

また、*Tam3* の離脱した影響がどのように後代へ伝達しているのかを明らかにするため、*Tam3* が離脱した個体の後代における花卉表現型を調査した。その際、独立した転移を検出するために、null 型個体に低温で生育した HAM2 系統を掛けあわせて作出したヘテロ接合型個体を用いた。観察した 1152 個体のうち *Tam3* が転移したと考えられる個体は 7 個体と、花卉に現れる斑入りの頻度と比べて少ない。これらの結果は体細胞と生殖細胞における *Tam3* 転移動態に差異があることを意味する。